**冻存细胞收货后处理方法:**

1. 收到细胞后，首先观察泡沫箱中干冰是否有剩余，冻存管是否完好，是否有解冻情况。若发现干冰完全汽化或冻存管有解冻现象，请及时拍照并与我们联系。如果细胞签收三天内未与我们联系，则默认为收货良好。
2. 细胞在液氮中可长期保存；-80 ℃保存不要超过一个月，长期在-80 ℃可能会导致细胞活率下降。
3. 复苏第一管细胞后，如有活性、状态问题及时与我们联系。

OP9 (小鼠骨髓基质细胞)细胞说明书

细胞背景：

OP9细胞源自新生的op/op小鼠颅盖。因编码M-CSF的基因中的一个突变，OP9细胞不能生成有功能的巨噬细胞克隆刺激因子(M-CSF)。M-CSF的存在对胚胎干细胞(ES)分化成血细胞而不是其他巨噬细胞有抑制功能。OP9细胞可以用于与小鼠胚胎干细胞共培养以诱导胚胎干细胞分化成成红血球来源的、骨髓来源的和B细胞谱系的血细胞。与OP9细胞共培养不需要外源的生长因子或复杂的胚胎结构，这个系统对研究造血细胞的发育和分化的分子机理有用。

细胞信息

* 细胞名称：OP9(小鼠骨髓基质细胞) (STR鉴定正确)
* 种属：小鼠
* 形态特性：成纤维细胞样。
* 生长特性：贴壁生长
* 细胞类型：基质细胞
* 细胞来源：小鼠骨髓

培养条件

* 培养基：RPMI1640＋[10% FBS](https://www.procell.com.cn/view/5408.html" \t "https://www.procell.com.cn/view/_blank)＋[1% P/S](https://www.procell.com.cn/view/262.html" \t "https://www.procell.com.cn/view/_blank)
* 培养温度：37℃
* 气体环境：95%空气，5%CO₂。
* 培养箱湿度：70% - 80%。
* 传代比例：1:3-1:6
* 换液频次：2-3次/周

**细胞操作**

* **细胞复苏**：

提前取出1支细胞洗涤液和1支细胞复苏液，放在37℃水浴锅中解冻。将细胞冻存管从液氮中取出，**迅速**置于 37℃水浴中解冻。解冻后立即将细胞悬液转移到睿必特TM洗涤液管中，轻轻混匀。将离心管置于水平离心机中，2000rpm 离心5分钟，弃去上清。再加入5-6ml睿必特TM复苏液，用滴管轻轻吹打成单细胞悬液，避免气泡。将细胞悬液转移至T25细胞培养瓶中，置于二氧化碳培养箱中培养。

* **细胞传代**：

1.当细胞汇合度达 80-90%，即可进行传代培养。

2.弃去旧培养基，用不含钙、镁离子的 PBS 轻轻润洗细胞 1-2 次。

3.加 1-2 mL消化液（0.25 % Trypsin-0.53 mM EDTA）于培养瓶中，常温或者37 ℃消化 1-2 min，然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，加 5 ml 以上含 10%血清的完全培养基终止消化轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出至离心管中，轻轻吹打成单细胞悬液，2000 rpm 离心5 min弃去上清液。

4.按 5-6 mL/瓶补加完全培养基，将细胞悬液按 1:2 到 1:3的比例分到新的含 5-6 mL 完全培养基的培养皿中或者培养瓶中。

**注意事项**

1. 所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并请注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。
2. 建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害。